مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال بیست و یکم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات ۲۲-۱۵

تأثیر هسپریدین در تعدیل اضطراب و اختلال حرکتی ناشی از مواجهه با فلوراید: یک مطالعه مدل موش صحرایی

لیلا کشاورز[۱]، مهدی شفیعی ثابت[۲]، داوود جهان مهر[۳]، سبحان غضنفری مقدم[۳]، رضا اسدی گلشن[۴]

۱- گروه بیولوژی تولیدمثل، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۲- گروه پزشکی خانواده، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- نویسنده مسئول: گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، پست الکترونیکی: asadigr@ymail.com; asadigr@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۷/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: فلوراید در منابع مختلفی از جمله آب آشامیدنی، محصولات دندانپزشکی، کالاهای مصرفی و مکمل های غذایی وجود دارد که می تواند منجر به افزایش مواجهه کلی با این ماده شود. مصرف بالای فلوراید ممکن است اثرات نامطلوبی بر سیستم عصبی داشته باشد. هسپریدین، یک فلاونوئید موجود در مرکبات، اثرات محافظت کننده عصبی در برابر سمیت های مختلف را نشان داده است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیر هسپریدین در اضطراب و اختلال حرکتی ناشی از فلوراید در موش های صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: موش های صحرایی نر از نژاد ویستار (۲۰۰-۱۸۰ گرم) به چهار گروه تقسیم شدند. موش ها با دسترسی آزاد به آب و غذا، فلوراید (۲۰۰ ppm) را با یا بدون هسپریدین (۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم/ روز، به روش گاواژ) به مدت ۴ هفته دریافت کردند. در پایان ۴ هفته، موش ها در Elevated-plus maze از نظر اضطراب و اختلال حرکتی مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که درمان همزمان با هسپریدین طی مصرف فلوراید، از کاهش زمان سپری شده در بازوی باز و ورود به بازوی باز (شاخص های اضطراب) در Elevated-plus maze جلوگیری کرد ($p<۰/۰۱$). علاوه بر این، افزایشی در فعالیت حرکتی موش های گروه فلوراید + هسپریدین در مقایسه با موش های تیمار شده با فلوراید مشاهده شد ($p<۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: مواجهه با فلوراید در موش های صحرایی می تواند باعث ایجاد اضطراب و اختلال حرکتی شود، و هسپریدین می تواند به عنوان یک عامل ضداضطراب عمل کند.

واژگان کلیدی: فلوراید، هسپریدین، اضطراب، اختلال حرکتی

پیام‌های اصلی

- فلوراید اثر سمیت عصبی و هسپریدین اثر محافظتی عصبی از خود نشان می‌دهد.
- مواجهه با فلوراید باعث ایجاد اضطراب و اختلالات حرکتی می‌شود.
- هسپریدین از اختلالات رفتاری ناشی از فلوراید جلوگیری می‌کند.
- هسپریدین می‌تواند به عنوان درمان احتمالی برای اثرات مضر فلوراید در سیستم عصبی مطرح باشد.

• مقدمه

فلوراید عضوی از گروه هالوژن‌ها است که تقریباً در همه جا از جمله آب، گیاهان و خاک یافت می‌شود (۲، ۱). بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت (WHO)، این ترکیب می‌تواند اثرات مختلفی بر سلامت انسان داشته باشد (۳). یکی از اثرات مفید مصرف فلوراید، رسوب آن در بافت‌های معدنی مانند استخوان و دندان و افزایش مقاومت آنهاست. با این حال، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که فلوراید می‌تواند باعث سمیت سلولی، استرس اکسیداتیو، آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) و آسیب به کبد، کلیه، تیموس و طحال شود (۵، ۴).

علاوه بر این، مقادیر زیاد فلوراید می‌تواند از سد خونی-مغزی (BBB) عبور کرده و در مغز تجمع یابد که منجر به اختلالات عصبی می‌شود (۶). مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که مصرف بالای فلوراید اثرات سمی بر سیستم عصبی، دستگاه گوارش و سیستم دفع ادرار دارد (۸، ۷). همچنین ارتباطی بین سطح بالای فلوراید در آب‌های زیرزمینی و کاهش ضریب هوشی (IQ) در کودکان گزارش شده است (۹). اختلالات حرکتی و حافظه از عوارض مواجهه با فلوراید هستند (۱۰). همچنین نشان داده شده است که مصرف فلوراید به مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آسیب می‌زند (۱۱).

ترکیبات زیست‌فعال در مواد غذایی و نوشیدنی‌های گیاهی مانند پلی‌فنول‌ها (اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، الکل‌های فنلی) ممکن است اثرات مثبتی بر سلامت داشته باشند (۱۲). مشخص شده است که فلاونوئیدهای مرکبات دارای خواص مختلفی از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضدالتهابی هستند (۱۳). هسپریدین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اعضای گروه فلاونوئیدهای مرکبات، دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بوده و قادر به عبور از سد خونی-مغزی است. بنابراین، این فلاونوئیدهای مرکبات ممکن است از تخریب عصبی جلوگیری کرده و توانایی‌های ذهنی را بهبود بخشند (۱۵، ۱۴).

مصرف فلوراید پیش‌تر اثبات شده است که تأثیرات نامطلوبی بر یادگیری و حافظه، همچنین تعادل، فعالیت حرکتی و هماهنگی حرکات دارد (۲۰-۱۶، ۱۰). علاوه بر این، یک مطالعه قبلی نشان داد که هسپریدین به میزان قابل توجهی موجب کاهش نقایص حرکتی و از دست دادن حافظه در موش‌های صحرایی شده است (۲۱). مطالعه دیگری نیز نشان داد که هسپریدین می‌تواند از اثرات سمی مصرف فلوراید بر تعادل و هماهنگی حرکات جلوگیری کند (۳).

بر اساس گزارشات مذکور، و با توجه به اینکه اثر فلوراید بر اضطراب و نقش هسپریدین در مقابل آن مورد بررسی قرار نگرفته است؛ مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر فلوراید و هسپریدین در مدل موش صحرایی، با استفاده از آزمون EPM (elevated plus-maze) طراحی شد.

• مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی

۴۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (سن ۸-۱۰ هفته، وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم) با دسترسی آزاد به آب و غذا، در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعته به مدت یک هفته قبل از شروع دوره آزمایشی نگهداری شدند. کلیه پروتکل‌های آزمایشی مطابق با دستورالعمل‌های کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد (IR.TUMS.AEC.1401.058).

طرح مطالعه

حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه (۱۰ موش در هر گروه) تقسیم شدند: گروه کنترل: موش‌هایی با دسترسی آزاد به آب و غذا؛ گروه فلوراید: موش‌هایی که سدیم فلوراید (مرک، آلمان) با غلظت ppm ۲۰۰ در آب آشامیدنی دریافت کردند حیوانات به طور آزاد به آب حاوی محلول فلوراید دسترسی داشتند (۲۲)؛ گروه هسپریدین: موش‌ها در این گروه هسپریدین (سیگما، آمریکا) را که به صورت سوسپانسیون در آب آشامیدنی تهیه می‌شد، با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز به روش گاواژ (۱۰ میلی‌لیتر/کیلوگرم) دریافت کردند (۳)؛ گروه فلوراید+هسپریدین: موش‌هایی که سدیم فلوراید (ppm ۲۰۰ در آب آشامیدنی) همراه با هسپریدین (۲۰۰

میلی‌گرم/کیلوگرم/روز به روش گاواژ) دریافت کردند. پس از ۲۸ روز، آزمون elevated plus-maze (EPM) انجام شد.

ارزیابی اضطراب و فعالیت حرکتی در EPM

آزمون رفتاری در اتاق آزمایشی با شرایط کنترل‌شده دما و صدای ثابت انجام شد و به حیوانات فرصت داده شد تا با محیط آزمایشگاه سازگار شوند. لازم به ذکر است که فرد مسئول ارزیابی اضطراب از شرایط آزمایشی هر حیوان بی‌اطلاع بود. EPM یک مدل رایج برای ارزیابی اضطراب در جوندگان است (۲۴، ۲۳). این دستگاه شامل یک ساختار به شکل بعلاوه با دو بازوی باز و دو بازوی بسته (هرکدام با سقف باز) می‌باشد. اساس این مدل بر پایه تمایل ذاتی جوندگان به اجتناب از فضاهای باز است. کاهش اضطراب در این ماز با دو شاخص تعریف می‌شود: ۱) افزایش زمان سپری شده در بازوهای باز [open arms time (OAT)] و ۲) افزایش تعداد ورود به بازوهای باز [open arms entries (OAE)]. تعداد کل ورود به بازوها و تعداد ورود به بازوهای بسته به عنوان معیارهایی از فعالیت کلی حیوان در نظر گرفته می‌شوند.

در این مطالعه، موش‌ها در نقطه تقاطع چهار بازوی ماز قرار داده شدند. ماز مورد استفاده شامل دو بازوی باز (۱۰×۵۰ سانتی‌متر) بدون دیوار و دو بازوی بسته با ابعاد مشابه اما با دیواره‌های ۴۰ سانتی‌متری بود. دستگاه در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از کف در اتاقی کم‌نور و آرام قرار داشت.

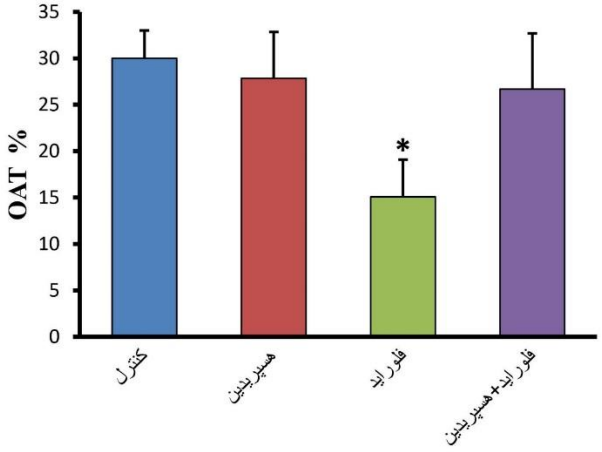
حیوانات حداقل به مدت ۱ ساعت قبل از شروع آزمون با محیط آزمایشگاه سازگار شدند. پس از هر آزمون، ماز کاملا تمیز می‌شد. هر موش در مرکز دستگاه روبروی یک بازوی بسته قرار داده می‌شد. سپس تعداد ورود به بازوهای باز و بسته و زمان سپری شده در هر دو نوع بازو به مدت ۵ دقیقه ثبت می‌گردید. تعداد کل ورود به هر دو نوع بازو به عنوان شاخص فعالیت حرکتی کلی [general motor activity (GMA)] در نظر گرفته شد (۲۴، ۲۳).

تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس (ANOVA) و به دنبال آن آزمون توکی (Tukey's test) توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۷ (شرکت IBM، شیکاگو، ایلینوی، آمریکا) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تمام مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار (SD) بیان شده‌اند. علاوه بر این، مقدار ($p\leq۰/۰۵$) به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

نتایج نشان داد که گروه فلوراید در مقایسه با گروه فلوراید+هسپریدین، OAT به طور معنی‌داری کمتری داشت ($p<۰/۰۱$). علاوه بر این، گروه فلوراید در مقایسه با گروه کنترل نیز OAT به طور معنی‌داری کمتری نشان داد ($p<۰/۰۱$). با این حال، تفاوت معنی‌داری بین گروه فلوراید+هسپریدین و گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار ۱).



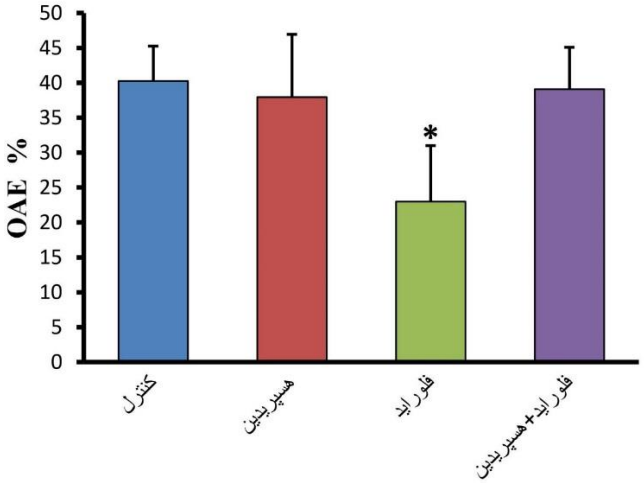
نمودار ۱: مقایسه میانگین±انحراف معیار درصد زمان سپری شده در بازوهای باز (OAT) در آزمون EPM.

*تفاوت معنی‌دار بین گروه تیمار شده با فلوراید و سایر گروه‌ها در سطح ($p<۰/۰۱$)

گروه فلوراید در مقایسه با گروه فلوراید+هسپریدین درصد OAE به طور معنی‌داری کمتری داشت ($p<۰/۰۱$). همچنین، گروه فلوراید در مقایسه با گروه کنترل OAT به طور معنی‌داری کمتری نشان داد ($p<۰/۰۱$). با این وجود، تفاوت معنی‌داری بین گروه فلوراید+هسپریدین و گروه‌های کنترل مشاهده نشد (نمودار ۲).

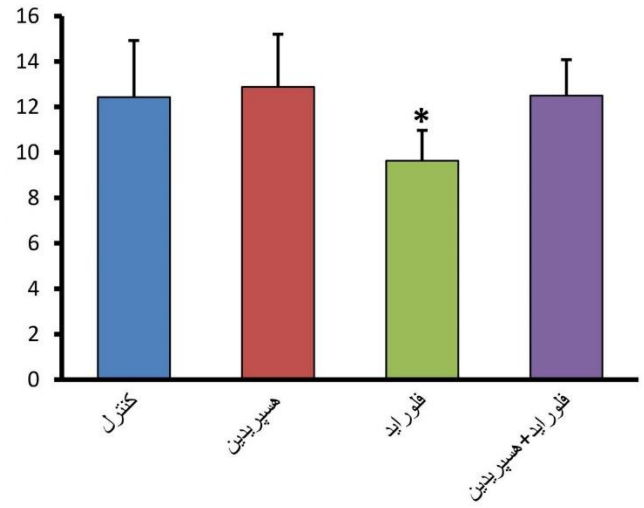
نتایج تفاوت‌های معنی‌داری بین گروه فلوراید و گروه فلوراید+هسپریدین از نظر GMA نشان داد ($p<۰/۰۱$). علاوه بر این، گروه فلوراید در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۱$) (نمودار ۳). این نتایج نشان داد که درمان همزمان با هسپریدین در طی مصرف فلوراید از کاهش OAT و OAE جلوگیری کرده و فعالیت حرکتی را در گروه فلوراید+هسپریدین در مقایسه با حیوانات تیمار شده با فلوراید

افزایش داد. افزایش در OAT شاخصی از رفتار ضد اضطرابی در جوندگان محسوب می‌شود.



نمودار ۲: مقایسه میانگین±انحراف معیار درصد ورود به بازوهای باز (OAE) در آزمون EPM.

*تفاوت معنی‌دار بین گروه تیمار شده با فلوراید و سایر گروه‌ها در سطح (p<۰/۰۱)



نمودار ۳: مقایسه میانگین±انحراف معیار فعالیت حرکتی کلی (GMA) در آزمون EPM.

*تفاوت معنی‌دار بین گروه تیمار شده با فلوراید و سایر گروه‌ها در سطح (p<۰/۰۱)

• بحث

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اضطراب و اختلالات حرکتی در موش‌های در معرض فلوراید و بررسی نقش احتمالی محافظتی هسپریدین با استفاده از آزمون EPM انجام شد. یافته‌های ما به وضوح نشان داد که مواجهه با فلوراید می‌تواند منجر به بروز اضطراب و اختلال حرکتی در موش‌ها گردد. همچنین نتایج گروه فلوراید+هسپریدین در مطالعه حاضر نشان داد که درمان با هسپریدین از بروز تغییرات رفتاری در آزمون EPM جلوگیری نمود و در تعدیل اضطراب و اختلال حرکتی ناشی از مواجهه با فلوراید مؤثر بود.

همسو با یافته‌های حاضر در مورد اثرات نامطلوب فلوراید بر جنبه‌های رفتاری، مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که مصرف فلوراید می‌تواند تأثیرات زیان‌باری بر یادگیری و حافظه، و همچنین تعادل، فعالیت حرکتی و هماهنگی حرکات داشته باشد (۲۰-۱۶، ۱۰). به عنوان مثال، بارتوس و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه‌ای روی موش های صحرایی گزارش کردند که مواجهه قبل از تولد با فلوراید، حافظه بلندمدت را مختل کرده و رفتار افسرده‌مانندی را در بچه‌موش‌های ۹۰ روزه ایجاد نمود (۲۵). در مطالعه دیگری (۲۰۲۴)، مصرف ۱۲ ماهه آب حاوی فلوراید در موش‌ها باعث اختلال حافظه کاری فضایی و تضعیف یادگیری مکانی و حافظه بلندمدت شد (۲۶). همچنین متاآنالیز جدیدی (۲۰۲۵) نشان داده رت‌ها و موش‌های مواجه با فلوراید مزمن، رفتارهای افسرده‌وار را به طور معنی‌داری افزایش و رفتارهای اضطرابی را کاهش دادند (۲۷).

همسو با یافته‌های حاضر در مورد اثرات مطلوب هسپریدین بر جنبه‌های رفتاری، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که هسپریدین به میزان قابل توجهی موجب کاهش نقایص حرکتی و اختلالات حافظه در موش‌های صحرایی می‌شود (۲۱). مطالعه دیگری نیز نشان داده که هسپریدین قادر به پیشگیری از اثرات سمی مصرف فلوراید بر تعادل و هماهنگی حرکتی است (۳). در یک مدل حیوانی اختلال اضطرابی پس از سانحه، هسپریدین به طور معنی‌داری رفتارهای افسرده‌وار و اضطرابی را کاهش داد و به بازگرداندن سطح سروتونین در هیپوکامپ و آمیگدال کمک کرد (۲۸). در زمینه‌ی حرکتی نیز، هسپریدین در رت‌های دیابتی پارامترهای هدایت عصبی و عملکرد حرکتی را بهبود داده است (۲۹) و یک مرور جامع نیز گزارش کرده است که هسپریدین عملکردهای حسی-حرکتی و حرکتی را در موش‌های دچار اختلال شناختی تقویت می‌کند (۳۰).

یافته ما در مورد تأثیر فلوراید بر رفتار در آزمون EPM را می‌توان به هر یک از مکانیسم‌های زیر نسبت داد :

تأثیر بر سد خونی-مغزی: مواجهه با فلوراید به سد خونی-مغزی آسیب رسانده و منجر به اختلالات عملکردی در مغز می‌شود (۱۰).

اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی: سمیت فلوراید هم به صورت مستقیم و هم غیرمستقیم موجب مهار عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. از آنجا که مغز نسبت به سایر اندام‌ها دارای محتوای لیپیدی بیشتری است، بیشتر در معرض استرس اکسیداتیو قرار دارد. قرارگیری طولانی‌مدت در معرض این عنصر، فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم لیپیدها را تغییر می‌دهد (۳۱).

استرس اکسیداتیو: سمیت ناشی از مصرف دوزهای بالای فلوراید منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود (۳۲). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تجویز فلوراید موجب افزایش قابل توجه در تولید محصولات پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شده است (۳۵-۳۳).

تأثیرات سلولی-مولکولی: مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اثرات سمی فلوراید ممکن است منجر به آسیب DNA، کاهش فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) و آپوپتوز شود (۳۷، ۳۶، ۱۹).

مکانیسم‌های احتمالی این اثرات محافظتی هسپریدین را می‌توان بر اساس یافته‌های زیر تبیین کرد:

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: هسپریدین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی شناخته شده است که می‌تواند اثرات مضر مصرف بیش از حد فلوراید در موش‌ها را کاهش دهد. درمان با هسپریدین موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۳۸).

تعدیل آپوپتوز: هسپریدین منجر به کاهش سطح بیان ژن‌های آپوپتوزی در مقایسه با گروه مصرف کننده فلوراید می‌گردد (۳۸).

تأثیر بر فاکتورهای مغزی: درمان با هسپریدین باعث افزایش سطح فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در مغز موش‌ها می‌شود. همچنین هسپریدین نقش اساسی در کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی و آپوپتوز ایفا می‌کند (۳۹).

تأثیرات ضدالتهابی: مطالعه دیگری نشان داد که پس از تجویز هسپریدین در موش‌های مبتلا به آسیب مغزی خفیف، کاهش معنی‌داری در سیتوکین‌های پیش‌التهابی مشاهده می‌شود (۴۰).

اثربخشی هسپریدین در کاهش اضطراب ناشی از فلوراید ممکن است ناشی از فعالیت اصلاح‌کننده این ترکیب باشد که از طریق حذف یا سم‌زدایی عوامل تولیدشده توسط فلوراید در بافت عصبی عمل می‌کند. یافته‌های حاضر به همراه شواهد قبلی، پایه‌های علمی محکمی برای بررسی‌های آینده در مورد پتانسیل درمانی هسپریدین در اختلالات عصبی ناشی از فلوراید فراهم می‌کنند. با این حال، برای تعیین پروفایل کامل فارماکولوژیک هسپریدین و مکانیسم‌های دقیق عمل آن، انجام مطالعات بیشتری ضروری است.

با وجود نتایج ارزشمند این تحقیق، چند نکته به عنوان محدودیت قابل ذکر است. مطالعه حاضر تنها بر روی مدل حیوانی (موش‌های نر ویستار) انجام شد و بنابراین برای تعمیم نتایج به انسان به تحقیقات بالینی بیشتری نیاز است. دوز فلوراید و هسپریدین در یک سطح ثابت بررسی شد. مدت زمان مواجهه چهار هفته بود و نتایج ممکن است در مواجهه‌های طولانی‌تر متفاوت باشد. با این حال، طراحی مطالعه حاضر توانست شواهد اولیه و مهمی درباره نقش محافظتی هسپریدین در برابر اثرات زیان‌آور فلوراید فراهم آورد و زمینه‌ساز مطالعات آینده با رویکردهای گسترده‌تر باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که مواجهه با فلوراید موجب کاهش معنی‌دار شاخص های اضطرابی در تست EPM همچنین کاهش فعالیت حرکتی در موش‌های صحرایی می‌شود .از سوی دیگر، نتایج حاکی از آن بود که هسپریدین نقش محافظتی قابل توجهی در برابر اختلال اضطرابی و حرکتی ناشی از مواجهه با فلوراید ایفا می‌کند.

References

1. Ullah R, Zafar MS, Shahani N. Potential fluoride toxicity from oral medicaments: A review. Iranian journal of basic medical sciences. 2017;20(8):841.
2. Organization WH. Guidelines for drinking-water quality: World Health Organization; 2002.
3. Jaiswal P, Mandal M, Mishra A. Effect of hesperidin on fluoride-induced neurobehavioral and biochemical changes in rats. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 2020;34(11):e22575.
4. Akinrinde AS, Tijani M, Awodele OA, Oyagbemi AA. Fluoride-induced hepatotoxicity is prevented by L-Arginine supplementation via suppression of oxidative stress and stimulation of nitric oxide production in rats. Toxicology and Environmental Health Sciences. 2021;13:57-64.
5. Wei Q, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. A mini review of fluoride-induced apoptotic pathways. Environmental Science and Pollution Research. 2018;25:33926-35.
6. Chen J, Niu Q, Xia T, Zhou G, Li P, Zhao Q, et al. ERK1/2-mediated disruption of BDNF–TrkB signaling causes synaptic impairment contributing to fluoride–induced developmental neurotoxicity. Toxicology. 2018;410:222-30.
7. Dong N, Feng J, Xie J, Tian X, Li M, Liu P, et al. Co-exposure to arsenic-fluoride results in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through the PERK signaling pathway in the liver of offspring rats. Biological trace element research. 2020;197:192-201.
8. Ribeiro DA, Yujra VQ, da Silva VHP, Claudio SR, Estadella D, de Barros Viana M, et al. Putative mechanisms of genotoxicity induced by fluoride: a comprehensive review. Environmental Science and Pollution Research. 2017;24:15254-9.
9. Rocha-Amador D, Navarro ME, Carrizales L, Morales R, Calderón J. Decreased intelligence in children and exposure to fluoride and arsenic in drinking water. Cadernos de saúde pública. 2007;23(suppl 4):S579-S87.
10. Spittle B. Psychopharmacology of fluoride: a review. International clinical psychopharmacology. 1994;9(2):79-82.
11. Inkielewicz-Stepniak I, Czarnowski W. Oxidative stress parameters in rats exposed to fluoride and caffeine. Food and Chemical Toxicology. 2010;48(6):1607-11.
12. Darvesh AS, Carroll RT, Bishayee A, Novotny NA, Geldenhuys WJ, Van der Schyf CJ. Curcumin and neurodegenerative diseases: a perspective. Expert opinion on investigational drugs. 2012;21(8):1123-40.
13. Manthey JA, Guthrie N, Grohmann K. Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. Current medicinal chemistry. 2001;8(2):135-53.
14. Hirata A, Murakami Y, Shoji M, Kadoma Y, Fujisawa S. Kinetics of radical-scavenging activity of hesperetin and hesperidin and their inhibitory activity on COX-2 expression. Anticancer research. 2005;25(5):3367-74.
15. Marder M, Viola H, Wasowski C, Fernández S, Medina JH, Paladini AC. 6-Methylapigenin and hesperidin: new valeriana flavonoids with activity on the CNS. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2003;75(3):537-45.
16. Wang Y, Duan L, Zhang X, Jiao Y, Liu Y, Dai L, et al. Effect of long-term exposure to acrylamide on endoplasmic reticulum stress and autophagy in rat cerebellum. Ecotoxicology and environmental safety. 2021;224:112691.
17. Hu J, Li C, Hua Y, Liu P, Gao B, Wang Y, et al. Constraint-induced movement therapy improves functional recovery after ischemic stroke and its impacts on synaptic plasticity in sensorimotor cortex and hippocampus. Brain research bulletin. 2020;160:8-23.
18. Gao Q, Liu Y-J, Guan Z-Z. Decreased learning and memory ability in rats with fluorosis: increased oxidative stress and reduced cholinesterase activity in the brain. Fluoride. 2009;42(4):277.
19. Wang J, Gao Y, Cheng X, Yang J, Zhao Y, Xu H, et al. GSTO1 acts as a mediator in sodium fluoride-induced alterations of learning and memory related factors expressions in the hippocampus cell line. Chemosphere. 2019;226:201-9.
20. Banala RR, Karnati PR. Vitamin A deficiency: An oxidative stress marker in sodium fluoride (NaF) induced oxidative damage in developing rat brain. International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience. 2015;47(Pt B):298-303.
21. Justin-Thenmozhi A, Dhivya Bharathi M, Kiruthika R, Manivasagam T, Borah A, Essa MM. Attenuation of Aluminum Chloride-Induced Neuroinflammation and Caspase Activation Through the AKT/GSK-3β Pathway by Hesperidin in Wistar Rats. Neurotoxicity Research. 2018;34(3):463-76.
22. Atmaca N, Atmaca HT, Kanici A, Anteplioglu T. Protective effect of resveratrol on sodium fluoride-induced oxidative stress, hepatotoxicity and neurotoxicity in rats. Food and Chemical Toxicology. 2014;70:191-7.
23. Noorafshan A, Vafabin M, Karbalay-Doust S, Asadi-Golshan R. Efficacy of curcumin in the modulation of anxiety provoked by sulfite, a food preservative, in rats. Preventive Nutrition and Food Science. 2017;22(2):144.
24. Noorafshan A, Abdollahifar M-A, Karbalay-Doust S, Asadi-Golshan R, Rashidian-Rashidabadi A. Protective effects of curcumin and sertraline on the behavioral changes in chronic variable stress-induced rats. Experimental neurobiology. 2013;22(2):96.
25. Bartos M, Gumilar F, Baier CJ, Dominguez S, Bras C, Cancela LM, et al. Rat developmental fluoride exposure affects retention memory, leads to a depressive-like behavior, and induces biochemical changes in offspring rat brains. Neurotoxicology. 2022;93:222-32.
26. Nadei OV, Agalakova NI. AMPA and NMDA Receptors in Hippocampus of Rats with Fluoride-Induced Cognitive Decline. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(21):11796.
27. Enríquez-Sánchez FM, Pérez-Vega MI, Miranda-Beltrán MdlL, Valdez-Jiménez L. Effects of Long-Term Fluoride Exposure: Systematic Review and Meta-Analysis on Anxiety and Depression in Animal Models. Biological Trace Element Research. 2025;204(3):1393-1416.
28. Lee B, Choi GM, Sur B. Antidepressant-like effects of hesperidin in animal model of post-traumatic stress

disorder. Chinese journal of integrative medicine. 2021;27(1):39-46.

29. Gölboyu BE, Erdoğan MA, Çoşar MA, Balıkoğlu E, Erbaş O. Diosmin and hesperidin have a protective effect in diabetic neuropathy via the FGF21 and Galectin-3 pathway. Medicina. 2024;60(10):1580.

30. Olasehinde TA, Ekundayo TC, Ijabadeniyi OA, Olaniran AO. The Impact of Hesperidin on Cognitive Deficit and Neurobehavioural Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical Individual Studies. Current Behavioral Neuroscience Reports. 2024;11(4):246-59.

31. Dec K, Łukomska A, Skonieczna-Żydecka K, Jakubczyk K, Tarnowski M, Lubkowska A, et al. Chronic exposure to fluoride affects GSH level and NOX4 expression in rat model of this element of neurotoxicity. Biomolecules. 2020;10(3):422.

32. Hamza RZ, El-Shenawy NS, Ismail HA. Protective effects of blackberry and quercetin on sodium fluoride-induced oxidative stress and histological changes in the hepatic, renal, testis and brain tissue of male rat. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology. 2015;26(3):237-51.

33. Oyagbemi AA, Adebiyi OE, Adigun KO, Ogunpolu BS, Falayi OO, Hassan FO, et al. Clofibrate, a PPAR-α agonist, abrogates sodium fluoride-induced neuroinflammation, oxidative stress, and motor incoordination via modulation of GFAP/Iba-1/anti-calbindin signaling pathways. Environmental toxicology. 2020;35(2):242-53.

34. Umarani V, Muvvala S, Ramesh A, Lakshmi B, Sravanthi N. Rutin potentially attenuates fluoride-induced oxidative stress-mediated cardiotoxicity, blood toxicity and dyslipidemia in rats. Toxicology mechanisms and methods. 2015;25(2):143-9.

35. Sharma P, Verma PK, Sood S, Singh R, Gupta A, Rastogi A. Distribution of fluoride in plasma, brain, and bones and associated oxidative damage after induced chronic fluorosis in Wistar rats. Biological trace element research. 2022;200(4):1710-21.

36. Maity PP, Dash M, Dey A, Maity M, Chattopadhyay S, editors. Vitamin C and E in fluoride induced uterine oxidative stress and apoptotic gene expression in Wistar rats. Proceedings of the Zoological Society; 2021: Springer.

37. Wen P, Wei X, Liang G, Wang Y, Yang Y, Qin L, et al. Long-term exposure to low level of fluoride induces apoptosis via p53 pathway in lymphocytes of aluminum smelter workers. Environmental Science and Pollution Research. 2019;26:2671-80.

38. Talebinasab A, Javanbakht P, Mojaverrostami S, Ragerdi Kashani I, Keshavarz L, Hashemi M, et al. Hesperidin protects against sodium fluoride-induced molecular, stereological, and behavioral alterations in the rat cerebellum. Nutritional Neuroscience. 2026;29(5):559-78.

39. Yıldız MO, Çelik H, Caglayan C, Kandemir FM, Gür C, Bayav İ, et al. Neuromodulatory effects of hesperidin against sodium fluoride-induced neurotoxicity in rats: Involvement of neuroinflammation, endoplasmic reticulum stress, apoptosis and autophagy. NeuroToxicology. 2022;90:197-204.

40. Kosari-Nasab M, Shokouhi G, Ghorbanihaghjo A, Abbasi MM, Salari A-A. Hesperidin attenuates depression-related symptoms in mice with mild traumatic brain injury. Life Sciences. 2018;213:198-205.

Effect of Hesperidin in the Modulation of Anxiety and Motor Impairment Associated with Fluoride Exposure: A Rat Model Study

keshavarz L[1], Shafiee Sabet M[2], jahanmehr D[3], Ghazanfari Moghadam S[3], Asadi-Golshan R[4]*

1- Department of Reproductive Biology, School of Advanced Medical Sciences and Technologies, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

2- Department of Family Medicine, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*4-*Corresponding author: Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: asadigr@ymail.com; asadigr@tums.ac.ir*

Received 1 Jun, 2025 **Accepted 5 Oct, 2025**

Background and Objectives: Fluoride is present in various sources, including drinking water, dental products, consumer items, and dietary supplements, which may lead to an increased overall exposure. High fluoride intake can have adverse effects on the nervous system. Hesperidin, a flavonoid found in citrus fruits, has demonstrated neuroprotective effects against various toxicities. The present study aimed to evaluate effect of hesperidin in fluoride-induced anxiety as well as motor impairment in rats.

Materials & Methods: Male Wistar rats were divided into four groups. The rats with ad-libitum access to food and water received fluoride (200 ppm), with or without hesperidin (200 mg/kg/d per os) for 4 weeks. At the end of 4 weeks the rats were tested in the elevated plus-maze for anxiety and motor impairment.

Results: The results showed that concomitant treatment of hesperidin during fluoride consumption prevented the reduction of the time spent in the open arm and entrance to the open arm (the indexes of anxiety) in the elevated-plus maze ($p < 0.01$). Besides, an increase was found in motor activity of the rats in the fluoride+hesperidin group compared to the fluoride-treated animals ($p < 0.01$).

Conclusion: Exposure of fluoride in rats can induce anxiety and motor impairment, and hesperidin can act as an anti-anxiety agent.

Keywords: Fluoride, Hesperidin, Anxiety, Motor impairment